

Aus dem Hygiene Institut der
Johannes Gutenberg Universität Mainz

Suspensions- und Keimträgerversuche zur Überlebensfähigkeit von
Polio- und Herpesviren in Speichel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
der Johannes Gutenberg Universität
Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt von

DORIS KLUIN
aus Frankfurt/Main

Mainz 1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554422_0010

Aus dem Hygiene Institut der
Johannes Gutenberg Universität Mainz

Suspensions- und Keimträgerversuche zur Überlebensfähigkeit von
Polio- und Herpesviren in Speichel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
der Johannes Gutenberg Universität
Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt von

DORIS KLUIN
aus Frankfurt/Main

Mainz 1985

Dekan:

Prof. Dr. J. Michaelis

1. Gutachter:

Prof. Dr. E. Pfeiffer

2. Gutachter:

Prof. Dr. H. Dunkelberg

Tag der Promotion:

08. Mai 1985

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Die Tenazität von Viren	3
2.1.	Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit von Viren in der Außenwelt	3
2.2.	Einfluß der Temperatur	3
2.3.	Der Einfluß der Luftfeuchte auf das Überleben der Viren	6
2.4.	Der Einfluß der Matrix auf das Überleben von Viren	7
2.5.	Der Einfluß des Lichtes auf das Überleben von Viren	8
2.6.	Die Überlebensfähigkeit von Viren in Abhängigkeit vom pH-Wert	8
3.	Ziel der eigenen Untersuchungen	10
4.	Material und Methodik	12
4.1.	Verwendete Modellviren	12
4.2.	Versuchsdurchführung	14
4.2.1.	Suspensionsversuch	14
4.2.2.	Keimträgerversuch	15
5.	Ergebnisse	16
5.1.	Suspensionsversuche mit Polio	16
5.2.	Suspensionsversuche mit Herpes	20
5.3.	Keimträgerversuche mit Polio	20
5.4.	Keimträgerversuche mit Herpes	28
5.4.1.	Vorversuch	28
5.4.2.	Hauptversuch	30
6.	Diskussion	35
7.	Zusammenfassung	42
8.	Literaturverzeichnis	44

1. EINLEITUNG

Unter der Tenazität von Viren versteht man deren Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen. In erster Linie wird die Tenazität durch den verschiedenartigen Aufbau der Viruspartikel bedingt. Virusarten ohne Hülle verhalten sich in mancher Hinsicht stabiler als behüllte. Behüllte Viren verlieren rasch nach der Beschädigung oder Zerstörung ihrer Hülle ihre Infektiosität. Unter natürlichen Bedingungen sind jedoch sowohl zellgebundene als auch extrazellulär vorliegende Viren von organischen Begleitsubstanzen umgeben. Bei der Ausscheidung aus dem Wirtsorganismus liegen sie in Speichel, Faeces etc. vor. Diese unspezifischen, in der Regel eiweißhaltigen Beimengungen, bewirken einen zusätzlichen Schutz der Viren und erhöhen damit deren Widerstandsfähigkeit(33).

In der ärztlichen, insbesondere der zahnärztlichen Praxis, kommt der Überlebensfähigkeit der Viren auf Flächen eine besondere Bedeutung zu. Die verschiedenen Übertragungswege von Viren während einer zahnärztlichen Behandlung sind nicht ausreichend geklärt. Die unterschiedliche Tenazität der Viren muß bei Desinfektionsmaßnahmen berücksichtigt werden. Einerseits sind praxisrelevante Prüfungen von Desinfektionsmitteln nötig, andererseits muß festgestellt werden, ob bei Virusinfektionen eine Flächendesinfektion notwendig und sinnvoll ist, da bestimmte Viren innerhalb kürzester Zeit ihre Infektiosität verlieren. Aus dieser Sicht prüften wir in Laborversuchen die Überlebensfähigkeit von Modellviren (Polio- und Herpesviren) auf verschiedenen Flächen in Abhängigkeit von Tem-

peratur und Luftfeuchte. Da außerdem in der zahnärztlichen Praxis mit dem Vorkommen von in Speichel gehüllten Viren zu rechnen ist, interessierte uns darüberhinaus der Einfluß des Speichels auf die Tensazität der Modellviren auf den Flächen.

2. DIE TENAZITÄT VON VIREN

2.1. Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit von Viren in der Außenwelt

In der Außenwelt zeigen die Viren verschiedene Überlebensfähigkeiten. So liegen nach der Aufstellung von Sonntag(64) die Inaktivierungszeiten von in Speichel vorkommenden Viren in einem Bereich von Sekunden (Herpesvirus) bis zu mehreren Monaten (Hepatitis-B-Virus).

Eine lange Überlebenszeit wurde für das Virus der Maul- und Klauenseuche(69), für das Virus der Pferdeencephalitis(29), für das Virus der Schweinepest(32), für das Pockenvirus(62) und für die Enteroviren(6,7,45,60) beschrieben.

Insgesamt sind jedoch sehr unterschiedliche Inaktivierungszeiträume unter anderem für das Influenza-(10,11,28,50,53,60), das Masern-(12,13,23,55) und das Herpesvirus(12,13,62,64) angegeben.

Diese, nach den jeweiligen Untersuchern sehr widersprüchlichen Ergebnisse machen deutlich, daß für einen Vergleich der Infektiosität der Viren in der Außenwelt eine differenzierte Betrachtung nötig ist und die die Infektiosität beeinflussenden Faktoren, insbesondere die Temperatur, Feuchte und nicht zuletzt die begleitende Matrix zu beachten sind.

2.2. Einfluß der Temperatur

Die Empfindlichkeit der Viren gegenüber Temperaturschwankungen, die den physiologischen Bereich des jeweiligen Wirtes über- oder unterschreiten, sind sehr unterschiedlich.

Rhinoviren sind relativ kälteresistent. Eine Lagerung bei $+4^{\circ}\text{C}$ führt erst nach einigen Tagen zum Verlust der Infektiosität(68). Bei 37°C liegt die Halbwertszeit der Titerabnahme bei 2 Stunden(39). 30minütiges Erhitzen auf 50°C hat nur einen Titerverlust von 1-2 log 10-Stufen zur Folge(37).

Enteroviren haben im Wasser und Abwasser lange Überlebenszeiten. So persistieren Polio-, ECHO- oder Coxsackieviren im Trinkwasser bei Temperaturen zwischen 5°C und 19°C über 200 Tage(14,41,46,47,56). Im Seewasser liegt die Überlebenszeit jedoch nur bei 46 Tagen(34,41,57), während sie im Flußwasser länger ist und bis zu 160 Tagen umfaßt. Für das Hepatitisvirus kann im Trinkwasser bei einer Wassertemperatur von 22°C mit einer Inaktivierungszeit von 2 Wochen bis zu 2 Monaten gerechnet werden(7,37,49). Coxsackieviren und die übrigen Enteroviren können bei Temperaturen unter 0°C jahrelang ohne Aktivitätsverlust aufbewahrt werden. Das Poliovirus ist gegenüber einer Temperaturerhöhung über 30°C sehr empfindlich. Während die Überlebenszeit bei 37°C noch 24 Stunden beträgt, wird es bei 56°C bereits innerhalb einer halben Stunde vollständig inaktiviert(60).

Myxoviren zeigen eine hohe Sensibilität sowohl gegenüber Wärme als auch Kälte. Der Virusgehalt des RS-Virus nimmt bei 56°C innerhalb von 2 Minuten, bei 37°C innerhalb von 8 Stunden um die Hälfte ab. Das Einfrieren führt zu einem 10-fachen Titerverlust(8). Das Virus der Schweineinfluenza Stamm S 15 bleibt jedoch bei Gefriertrocknung oder Kühlschranksaufbewahrung im Lungengewebe länger als 6 Monate überlebensfähig(58), während in Virusextrakten oder -suspensionen innerhalb einer Woche keine infektiösen Viren mehr nachweisbar waren.

Gleiche Ergebnisse erzielten Horsfall und Turner(36), die das Überleben von Influenzaviren im infizierten Lungengewebe bei tiefen Temperaturen untersuchten. Selbst ein 9maliges Auftauen und Wiedereinfrieren während eines Zeitraumes von 5 Monaten führte zu keinem wesentlichen Titerverlust. Dieses Verhalten des Influenzavirus bestätigen auch Untersuchungen von Penttinen (50) und Tyrell(66). Greiff et al(24) wiesen jedoch darauf hin, daß die Absterbekinetik von der Schnelligkeit des Einfrierens beeinflußt wird. So fanden sie, daß ein langsames Absenken der Einfriertemperatur einen geringeren Titerabfall zur Folge hatte als rasches Abkühlen.

Masernviren verlieren aufgrund ihrer raschen Spontandesintergration schnell ihre Infektiosität, bei einer Lagerung bei $+4^{\circ}\text{C}$ schon innerhalb von 14 Tagen(22,55). Bei Raumtemperatur beträgt der Virusverlust innerhalb 24 Stunden 90% der Ausgangsmenge, bei 37°C 99,9%. Die Halbwertszeit wird dabei am häufigsten mit 2 Stunden angegeben(12,13). Bei Temperaturen über 37°C ist nach 45 Minuten kein infektiöses Material mehr nachweisbar. Bei einer Lagerung bei -70°C bleibt die Infektiosität über Monate bis Jahre erhalten.

Für das Newcastle-Disease-Virus ist eine Überlebenszeit von 25 Tagen bei einer Wassertemperatur von 17°C angegeben(51).

Adenoviren bleiben bei Temperaturen von $+4^{\circ}\text{C}$ bis -20°C über Monate und Jahre ohne große Verluste vermehrungsfähig. Bei 20°C und 36°C überleben sie einige Tage(19).

Das Herpesvirus behält seine Infektiosität bei einer Lagerung bei -70°C über Monate(57), in wässriger Lö-

sung verliert es bei 4°C und im Gewebeverband bei Zimmertemperatur(62) bereits innerhalb von 4 Tagen seine Aktivität. Bei 56°C sind Herpesviren bereits nach einer halben Stunde nicht mehr nachzuweisen.

Das Varizellen/Zostervirus verliert durch Erwärmen auf 37°C in einem Zeitraum von 24 Stunden seine Vermehrungsfähigkeit. Mehrmaliges Einfrieren und Wiederauftauen führt zu einem beachtlichen Titerverlust(71).

2.3. Der Einfluß der Luftfeuchte auf das Überleben der Viren

Einen wesentlichen Einfluß auf das Überleben der Viren außerhalb ihrer Wirtsorganismen hat die relative Luftfeuchtigkeit. Gegenüber Austrocknung sind in der Regel alle Viren sehr empfindlich.

Nach Songer(63) war der Virusverlust in einem Aerosol bei einem Vergleich von Newcastle-Disease-Virus, dem Virus der infektiösen Rhinotracheitis, dem MKS-Virus und Coliphagen in Abhängigkeit von der Luftfeuchte unterschiedlich. Während das NCD-Virus und das MKS-Virus am besten bei einer 10%igen relativen Luftfeuchte überlebten, waren die Überlebenschancen des Virus der infektiösen Rhinotracheitis und der Bakteriophagen bei einer hohen Luftfeuchte besser. Auch das Columbia-SK-Virus zeigt bei niedriger Temperatur und einer Luftfeuchte unter 5% wesentlich geringere Überlebensraten als bei Feuchten über 80%(1). Ebenso haben nach Ehrlich(21) Coliphagen bei Luftfeuchten unter 70% signifikant geringere Überlebenschancen als bei Luftfeuchten, die darüber liegen.

Während Adeno- und Polioviren(59) empfindlich gegen Austrocknung sind(15), scheinen Pockenviren und das Virus der MKS resistenter. In eingetrockneten Aphtenresten konnten noch nach 100 Tagen vermehrungsfähige MKS-

Viren nachgewiesen werden und eingetrocknete Reste von Pockeneruptionen enthielten noch nach einem Jahr virulentes Material(53). Empfindlicher reagiert das PR8-Influenzavirus auf das Antrocknen an Hausstaub. Bei niederen Temperaturen war nach 14 Tagen noch 1% der eingesetzten Virusmenge nachzuweisen(20).

2.4. Der Einfluß der Matrix auf das Überleben von Viren

Im Zellverband oder in Begleitung organischer Substanzen zeigen sich viele Viren wesentlich stabiler als in wässriger Lösung oder in Suspensionen.

So bleibt das Varizellen/Zostervirus bei 4°C im Kaninchenhirn über Monate hinaus virulent, während es seine Infektiosität in wässriger Lösung innerhalb von 14 Tagen einbüßt. Das gleiche Verhalten zeigt sich bei der Lagerung und Weiterverarbeitung des Schweineinfluenzavirus Stamm S 15, das in Lungengewebe wesentlich stabiler bleibt als in Suspensionen oder Extrakten(32).

Bei der Untersuchung über die Haltbarkeit von Influenza-PR8-Viren bei 4°C und einem pH-Wert von 7,0 kam Knight(40) zu dem Ergebnis, daß die bis mehrere Wochen nachweisbare Virusaktivität auch stark von der Salzkonzentration und Pufferung des jeweiligen Aufbewahrungsmediums beeinflußt wird.

Der bei der Aufbewahrung des Herpesvirus in Suspension bei 4°C rasch einsetzende Titerverlust kann dadurch verringert werden, daß dem Aufbewahrungsmedium Magermilch oder Eidotter zugesetzt wird(2,43).

Rubellaviren erwiesen sich nach der Zugabe von organischen Begleitsubstanzen bei einer Aufbewahrung bei 37°C bis zu einem Zeitraum von 3 Monaten als infektiös(44).

Bei der Überprüfung der Überlebensfähigkeit von verschiedenen Viren im Boden wurde für das Virus der Schweinepest eine Überlebenszeit von mehreren Tagen gefunden(32). Enteroviren haben nach Untersuchungen von Bagdasarijan(5,6) eine Persistenz von 150-170 Tagen im Erdreich.

- 2.5. Der Einfluß des Lichtes auf das Überleben von Viren
An Hausstaub angetrocknete PR8-Influenzaviren wurden schneller inaktiviert, wenn das Untersuchungsmaterial unter Lichteinfluß gehalten wurde(20).

Auch beim Masernvirus tritt bereits durch sichtbares Licht eine rasche Inaktivierung auf(30).

- 2.6. Die Überlebensfähigkeit von Viren in Abhängigkeit vom pH-Wert

Neben vielen anderen Faktoren beeinflusst auch die Wasserstoffionenkonzentration das Überleben der Viren. Die meisten Viren haben ein pH-Optimum im Neutralbereich von pH 7, wobei Abweichungen zur basischen Seite hin besser toleriert werden als Verschiebungen zum Säuren hin. So berichten Andrewes und Smith(4) über eine gute Haltbarkeit des Influenzavirus bei pH 7-9, während im sauren pH-Bereich die Infektiosität nicht lange erhalten blieb. Stock und Francis(65) untersuchten die Haltbarkeit des Influenza-PR8-Virus in einem Bereich von pH 3 bis pH 11,2 bei 28°C. Am Neutralbereich blieb die Virusaktivität länger als 72 Stunden stabil, während sie unter pH 5 oder über pH 10 schon nach einer Stunde nicht mehr nachweisbar war. Lauffer et al.(42) kamen bei ihren Untersuchungen über den Einfluß höherer Temperaturen bei unterschiedlichen pH-Werten zu dem Ergebnis, daß die größte Virusstabilität im Bereich zwischen pH 7,5 und pH 8,5 liegt. Dies

bestätigen auch Versuche von Gönner und Bock(26),
die das Verhalten von Viren in einem Bereich von pH 2
bis pH 11 untersuchten.

3. ZIEL DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

In der zahnärztlichen Praxis sind Zahnarzt, Helferin und Patient aufgrund der hochtourigen, mit Wasserkühlung versehenen Turbinen speichel- und bluthaltigen Aerosolen ausgesetzt. Zusätzlich bilden unzureichend desinfizierte Teile der Behandlungseinheiten (Schwebetische, Armlehnen der Behandlungsstühle etc.) Gefahrenstellen.

Die vorliegende Arbeit will daher die Überlebensfähigkeit von Viren außerhalb des menschlichen Körpers unter verschiedenen Umweltbedingungen untersuchen. Von besonderem Interesse wären Aussagen über das Verhalten des Hepatitis-B-Virus gewesen, da die Übertragung einer Hepatitis-B-Infektion während einer zahnärztlichen Behandlung ein besonderes Risiko darstellt. So konnte nachgewiesen werden, daß Zahnarztpraxen mit inapparent erkrankten und HBs-positiven Praxisangehörigen der Ausgangspunkt von Hepatitis-B-Epidemien waren(64). Untersucht wurden auch die sehr hohen Hepatitis-B-Morbiditätsquoten der Zahnärzte im Vergleich zur Durchschnittsbevölkerung(21,54). Diese steigt mit Zunahme der Berufsjahre an. Neben den bekannten direkten Übertragungen des Hepatitis-B-Virus durch Blut ist auch die Möglichkeit einer Virusverbreitung durch Speichel sehr wahrscheinlich(24). Wegen der Nichtanzüchtbarkeit sind aber derartige Versuchsansätze nicht realisierbar. Aus diesem Grunde wurden Versuche mit Modellviren durchgeführt.

Vor allem sollte geprüft werden, welchen Einfluß der Speichel auf die Persistenz der Viren außerhalb des Wirtsorganismus hat. Ein weiteres Ziel der Untersuchungen war es, die Absterbekinetiken von Modellviren

auf Flächen zu erfassen, da diese im Rahmen von Desinfektionsmittelprüfungen eine Bedeutung haben.

Abschließend muß die Frage diskutiert werden, ob aufgrund der durch Speichel beeinflussten Überlebensraten modifizierte Desinfektionsmaßnahmen notwendig werden.

4. MATERIAL UND METHODIK

4.1. Verwendete Modellviren

Zunächst führten wir Versuche mit Polioviren durch. Die Kontamination der Suspensionsmedien, später auch der Keimträger erfolgte mit Gewebekulturüberstand, der die auf HeLa-Zellen kultivierten Polioimpfviren TypII(P2att., P712Ch-2-ab, Behringwerke) enthielt. Der Virusgehalt im Überstand lag höher als 10^7TCID_{50} . Die Viruskultur wurde bei -28°C gelagert.

In weiteren Versuchen wurde mit Herpes-simplex-Virus TypI, Stamm Lennette, gearbeitet, den uns freundlicherweise Herr Prof. Falke, Mikrobiol. Inst., Virolog. Abt., der Universität Mainz überließ. Das Virus wurde auf BHK₂₁-Zellen gezüchtet und bei -70°C gelagert. Die verwendeten Suspensionen enthielten mehr als 10^7TCID_{50} .

Gewebekultur und Kulturmedien

Als Gewebekultur zum Nachweis der Polioviren kam eine HeLa-Zelllinie zum Einsatz. Die Anzüchtung erfolgte in einem Lactalbuminhydrolysat-Medium auf Hanke's Basis mit einem Zusatz an 10% Kälberserum. Als Erhaltungsmedium für die beimpften Kulturen diente das gleiche Medium, jedoch mit einem 5%igen Kälberserumzusatz.

Der Nachweis der Herpesviren erfolgte mit Hilfe von BHK₂₁-Zellkulturen(Zelllinie 21, ATCC, Fa. Seromed, München). Diese Zelllinie wurde in Dulbecco's MEM mit 10% Kälberserum und unter einer 5%igen CO₂-Athmosphäre gezüchtet. Als Erhaltungsmedium diente das vorhergehende, nur mit einem Zusatz von 5% Kälberserum.

Suspensionsmedien

Die Frage des Überlebens der Modellviren wurde in drei verschiedenen Suspensionsmedien, nämlich PBS(phosphate buffered salt solution), Speichel und Kunstsputum getestet.

Das PBS nach Dulbecco hatte folgende Zusammensetzung:
NaCl 8,00 g/l, KCl 0,20 g/l, KH_2PO_4 0,20 g/l,
 Na_2HPO_4 1,15 g/l, CaCl 0,10 g/l und MgCl_2 0,047 g/l.

Der Speichel wurde mehrere Stunden nach der Zahnpflege ohne zwischenzeitliche Nahrungsaufnahme gesammelt und bis zur Verwendung bei -18°C gelagert. Eine Sterilisation des Speichels wurde nicht vorgenommen.

Die Herstellung des Kunstsputums erfolgte nach folgendem Rezept:

10g Traganth-Gummi(DAB 7) wurden mit 100ml A.bidest. und 5g Mucin in 50ml A.bidest. bei $50-60^\circ\text{C}$ aufgelöst. Nach Dampfsterilisation dieser Lösungen bei $121^\circ\text{C}/20\text{min}$ wurden 100ml Traganth- und 15ml Mucinlösung mit 30ml inaktiviertem, sterilem Kälberserum versetzt.

Bestimmung des Virusgehaltes

Zunächst waren die Absterbekinetiken der Modellviren in den verschiedenen Suspensionsmedien PBS, Speichel und Kunstsputum zu untersuchen, wobei von der jeweiligen virushaltigen Suspension Verdünnungsreihen in log 10-Stufen angelegt wurden. Je Verdünnungsstufe verimpften wir 1ml auf 4 Gewebekulturröhrchen. Nach 2stündiger Inkubation wurde die überstehende Flüssigkeit in den Röhrchen dekantiert und 1,5ml Erhaltungsmedium zugesetzt. Nach 48 Stunden Bebrütung bei 37°C überprüften wir die für Polio- und Herpesviren typischen CPE's und errechneten den TCID_{50} nach der Methode von Reed und Muench(52).

Keimträger

Als Keimträger wurden die in Praxen am häufigsten verwendeten Materialien Resopal und Nirostastahl gewählt. Die Größe der Platten betrug circa 5x5cm. Sie wurden durch Autoklavieren bei 121°C sterilisiert.

4.2. Versuchsdurchführung

4.2.1. Suspensionsversuch

In sterilen Reagenzgläsern wurden 5ml der Suspensionsflüssigkeiten (PBS, Speichel, Kunstsputum) vorgegeben und mit je 1ml Poliovirussuspension bzw. Herpesvirus-suspension versetzt und mit einem Reagenzglasschüttler (IKA-Vibrofix, Fa. Janke und Kunkel KG, Staufen) durchgemischt. Die so gefüllten Röhrchen platzierten wir dann in Wasserbädern mit den Temperaturen 14°C, 21°C und 28°C. Aus diesen Ansätzen entnahmen wir sofort nach 1,3,6 und 14 Tagen Proben und züchteten die überlebenden Viren ohne Anreicherung an. Die Bestimmung erfolgte im Doppelansatz. Die Versuche wurden zeitlich versetzt dreimal durchgeführt.

In einem Vorversuch wurde geklärt, ob der unsterile Speichel bzw. das sterile Kunstsputum für die verwendeten Zellkulturen toxisch war. In keinem Fall konnte eine Schädigung der Zellen nachgewiesen werden. Weiter wurde geprüft, ob das Vorhandensein der Suspensionsmedien in der Zellkultur den Virusnachweis stört. Hierzu wurden zunächst der Zellkultur Kunstsputum bzw. Speichel zugesetzt. Anschließend erfolgte eine Virustitration auf den vorhandenen Zellen. Im Vergleich zu unbehandelten Zellen konnten keine Differenzen erfaßt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde auf eine Abtrennung der Viren von den Suspensionsmedien verzichtet.

4.2.2. Keimträgerversuch

Die sterilen Träger aus Resopal bzw. Nirostastahl wurden mit 1ml virushaltigem PBS, Speichel bzw. Kunst-sputum beschickt. Die so präparierten Platten lagerten wir anschließend in einer Klimakammer. Die Untersuchung der auf den Trägern überlebenden Viren erfolgte sofort, nach 12 Stunden, nach 24 Stunden, 3 Tagen und nach 6 Tagen. Zur Rückgewinnung der Viren wurden die Träger in einem Becherglas mit 10ml PBS überschüttet und 90 Sekunden lang in einem eisgekühlten Wasserbad mit Ultraschall behandelt. Anschließend bestimmten wir den Virusgehalt in dieser Waschflüssigkeit.

Untersucht wurde das Überleben der Modellviren auf den Trägern in der Klimakammer bei einer Lufttemperatur von 21°C und 28°C und einer relativen Luftfeuchte von 20%, 40% und 80%. Die vorgesehene Temperatur von 14°C bei den unterschiedlichen Luftfeuchten konnte in der uns zur Verfügung stehenden Klimakammer nicht gehalten werden, sodaß eine Untersuchung des Virusüberlebens bei dieser Temperatur unterbleiben mußte. Die Versuche bei entsprechenden Temperaturen und Luftfeuchten wurden dreimal unabhängig voneinander im Doppelansatz durchgeführt.

5. ERGEBNISSE

5.1. Suspensionsversuche mit Polio

Das Verhalten der Polioviren in den drei Suspensionsmedien und bei den Lagerungstemperaturen 14°C, 21°C und 28°C ist in den Abbildungen 1,2 und 3 dargestellt. Wie aus diesen ersichtlich wird, ist ein Einfluß der Suspensionsmedien auf das Überleben der Viren nachzuweisen.

Innerhalb der ersten 6 Tage ist ein unterschiedlicher Abfall des Virusgehaltes bei einer Temperatur von 14°C zu verzeichnen. Im Kunstsputum und PBS wird während dieses Zeitraumes eine Reduktion um eine 10er Potenz erreicht, anschließend bleibt der Virusgehalt bis zum 14. Tag annähernd konstant. Im Speichel dagegen verläuft die Absterbekinetik flacher. So wird die Inaktivierung um 1 log 10-Stufe erst nach 14 Tagen erreicht (Abb.1).

Bei einer Lagertemperatur von 21°C sind diese Differenzen nicht mehr so ausgeprägt. Zu Beginn der Lagerung erfolgt ein gleicher Abfall des Virusgehaltes innerhalb des ersten Tages. Nach Ablauf der ersten 24 Stunden sind differente Absterbeverläufe zu verzeichnen. Im PBS fällt der Virusgehalt bis zum dritten Tag stark ab, um anschließend bis zum 14. Tag nur noch geringfügig abzunehmen. Im Kunstsputum und Speichel dagegen verlangsamt sich bis zum dritten Tag die Reduktion. Im Kunstsputum beschleunigt sie sich aber wieder bis zum sechsten Tag. Im Vergleich hierzu sanken im Speichel die infektiösen Einheiten nur noch wenig (Abb.2).

Bei einer Lagerung der Polioviren bei 28°C konnten wir keine wesentlichen Differenzen zwischen den Suspensionsmedien bezüglich der Überlebensraten feststellen.

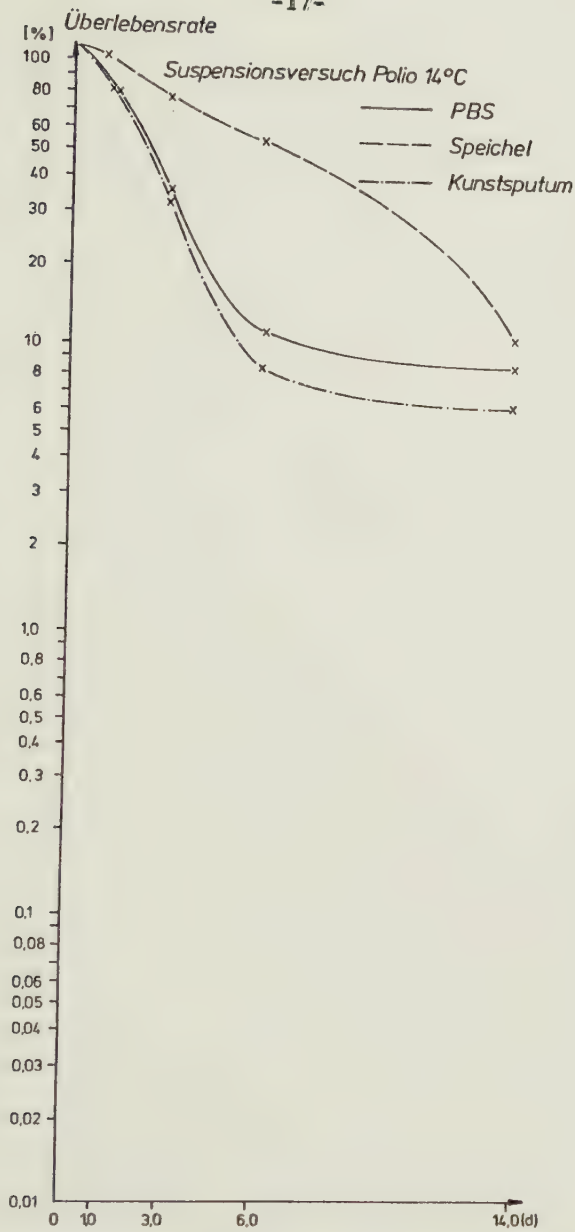


Abb. 1 Überlebensraten von Polioviren
 P II att bei 14°C in verschiedenen
 Suspensionsmedien

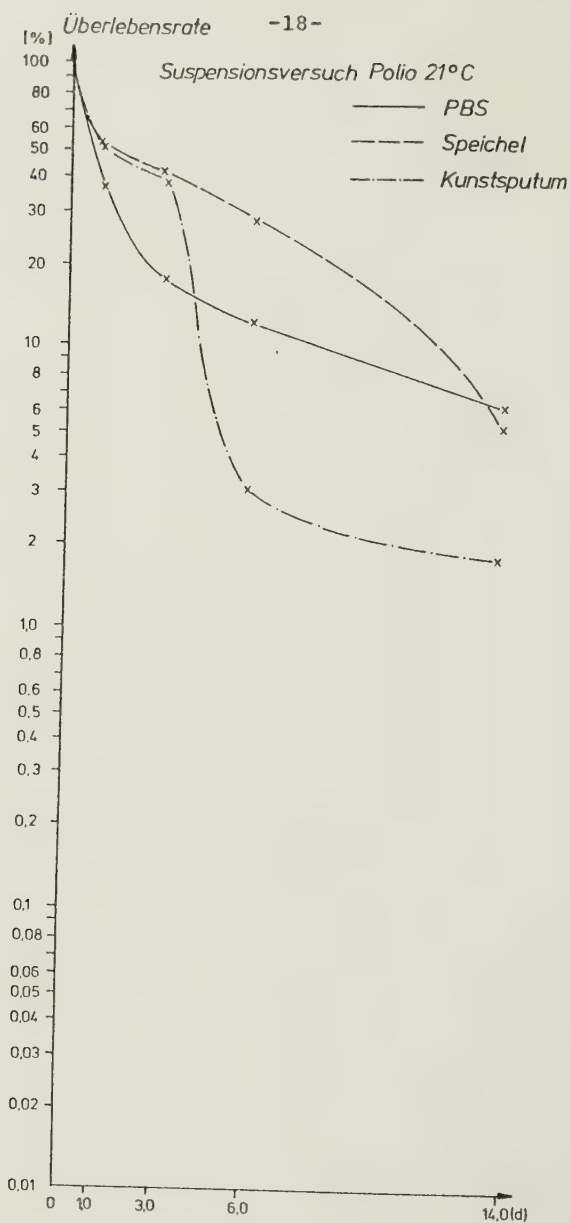


Abb. 2 Überlebensraten von Polioviren
 P II att bei 21°C in verschiedenen
 Suspensionsmedien

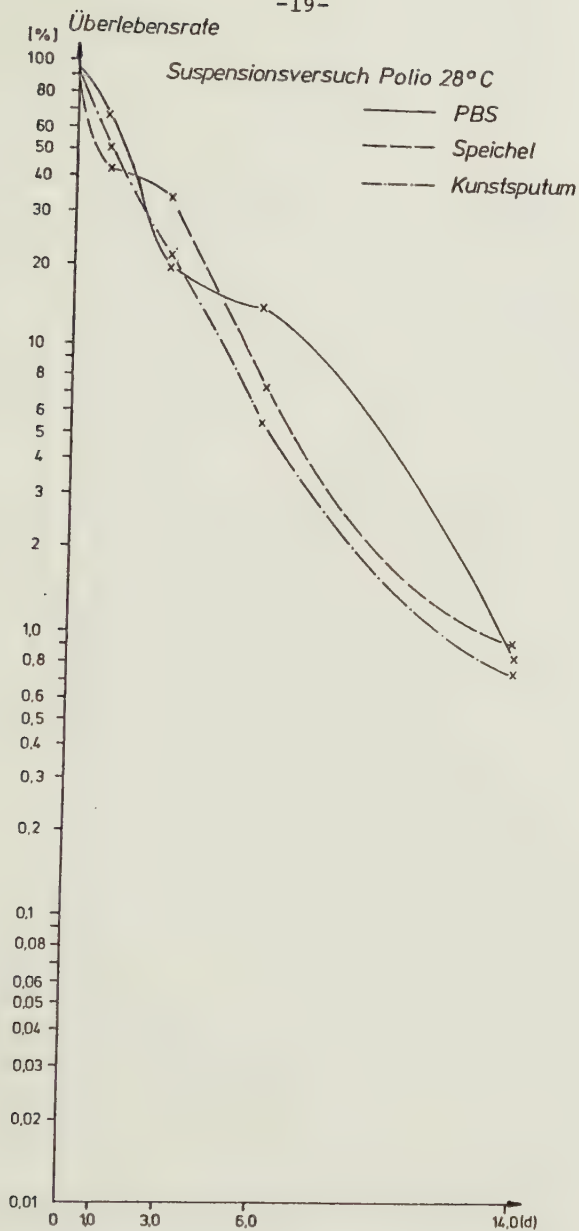


Abb. 3 Überlebensraten von Polioviren
 P II att bei 28°C in verschiedenen
 Suspensionsmedien

Jedoch zeigten die Kurvenverläufe geringe Unterschiede. Im Kunstsputum war ein gleichmäßiger Abfall auf eine 1%ige Überlebensrate (= 99%ige Inaktivierung) innerhalb von 14 Tagen zu verzeichnen. Beim Speichel und PBS verlangsamte sich nach einem bzw. nach 3 Tagen das Absterben, das sich aber nach dem 3. bzw. 6. Tag wieder beschleunigte, sodaß am 14. Tag die Überlebensraten in den drei unterschiedlichen Medien gleich waren (Abb.3).

5.2. Suspensionsversuch mit Herpes

Ein wesentlich größerer Einfluß der Suspensionsmedien war in den Versuchen mit Herpesviren nachweisbar. Im Gegensatz zu dem Versuch mit Polioviren, in denen der Speichel eher einen protektiven Einfluß auf das Überleben hatte, beeinflusste dieser das Überleben der Herpesviren sehr ungünstig. Innerhalb von 3 Tagen nahm unabhängig von der Temperatur der Virusgehalt um mehr als 2 log 10-Stufen ab. Bei einer Lagerung von 14°C und 21°C war nach 14 Tagen kein Virus mehr erfaßbar, bei 28°C schon nach 6 Tagen. Die Absterbekurven im Kunstsputum und PBS waren zweigipflig und in etwa gleich. In Abhängigkeit von der Temperatur fielen die Virusgehalte zwischen dem ersten und dritten Tag stark ab, hielten sich dann bis zum 6. Tag gleich, um anschließend wiederum massiv abzunehmen. Nach Versuchsende am 14. Tag waren im Gegensatz zum Speichel bei 14°C circa 1%, bei 21°C zwischen 0,1% und 1% und bei 28°C 0,1% der eingesetzten Viren noch nachweisbar (Abb.4,5 und 6).

5.3. Keimträgerversuch mit Polio

Die Mittelwerte der zeitlich versetzt gewonnenen Absterberaten der Polioviren in PBS, Speichel und Kunstsputum auf Resopal- und Metallflächen sind in den Abbildungen 7,8,9 und 10 dargestellt. Bei 21°C stellten die Luftfeuchte und das Suspensionsmedium die entscheidenden

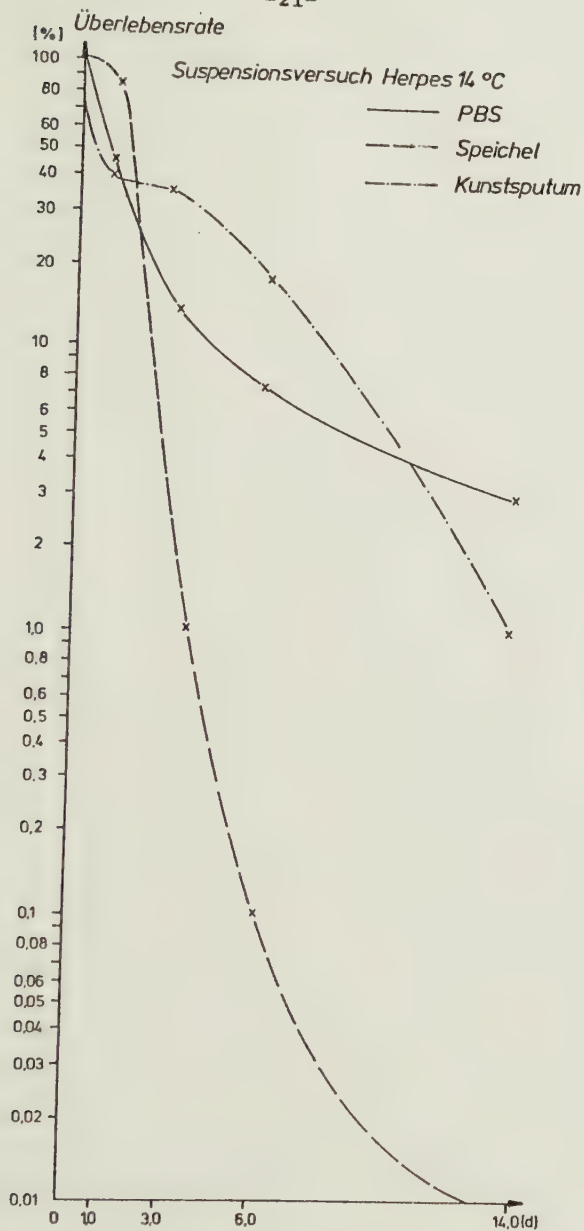


Abb. 4 Überlebensraten von Herpes simplex -
 Viren Stamm Lennette bei 14 °C in
 verschiedenen Suspensionsmedien

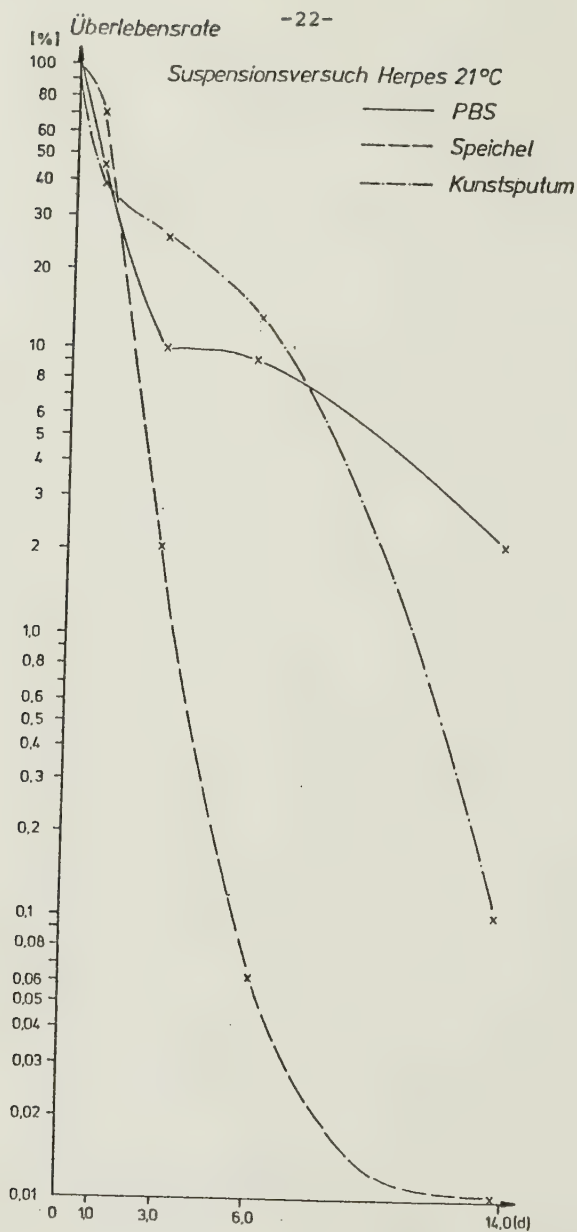


Abb. 5 Überlebensraten von Herpes simplex -
Viren Stamm Lennette bei 21°C in
verschiedenen Suspensionsmedien

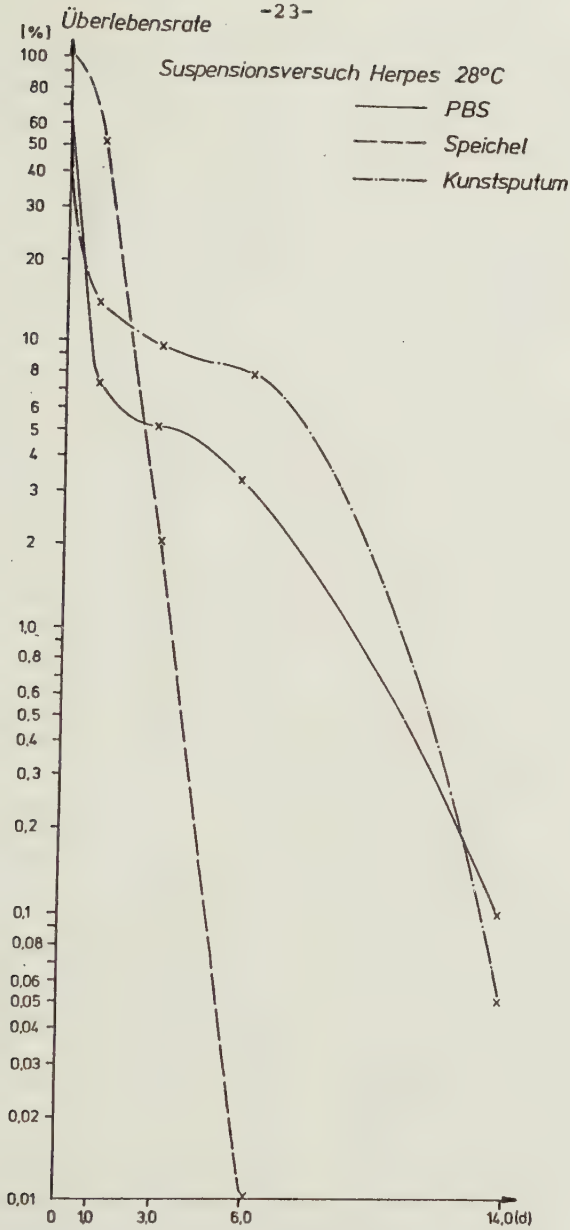


Abb. 6 Überlebensraten von Herpes simplex -
 Viren Stamm Lennette bei 28°C in
 verschiedenen Suspensionsmedien

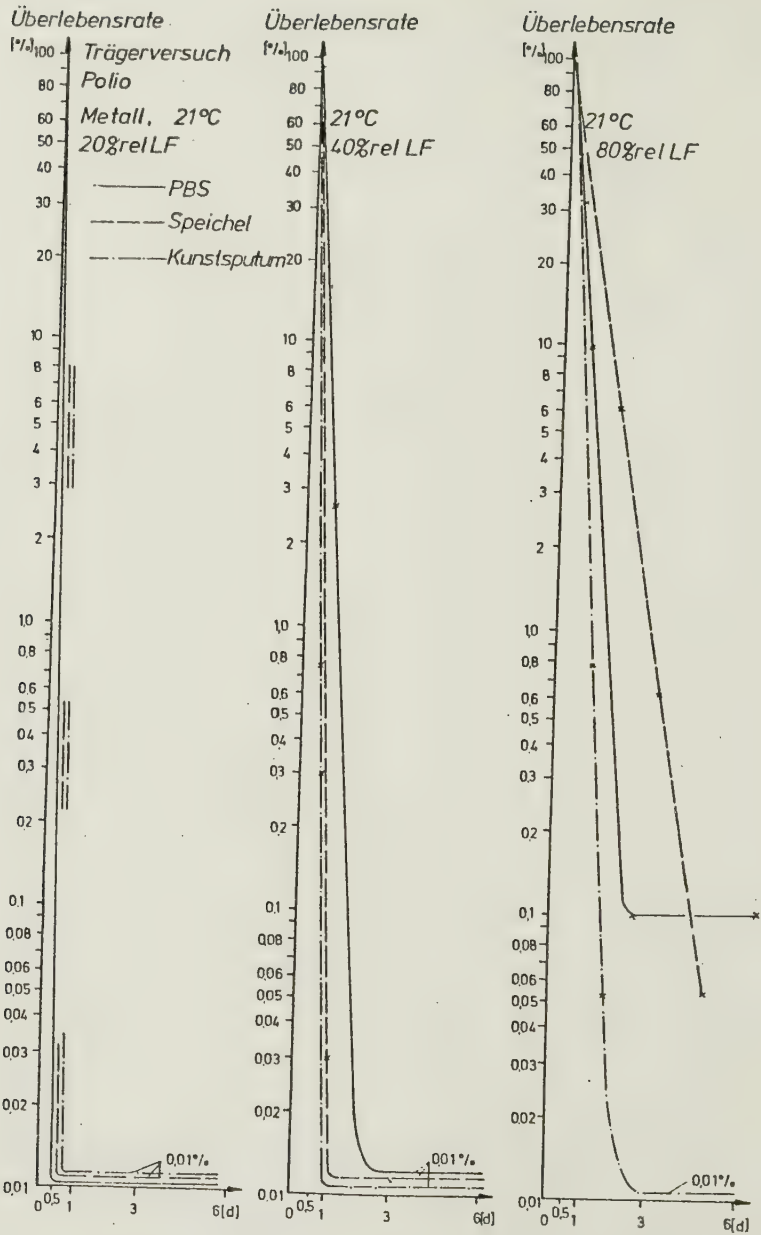


Abb. 7 Überlebensraten von Polioviren P II att auf Metall bei 21 °C bei verschiedenen Luftfeuchten und in unterschiedlichen Suspensionsmedien

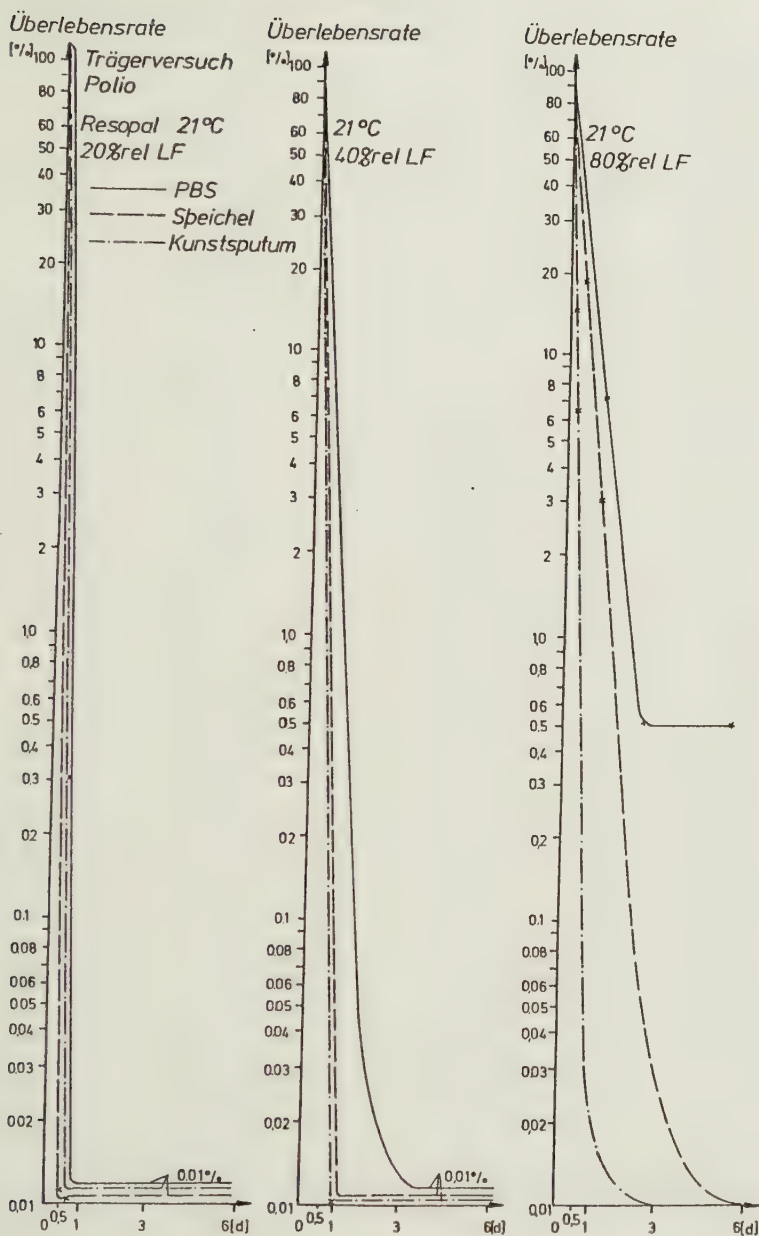


Abb. 8 Überlebensraten von Polioviren P II att auf Resopal bei 21°C bei verschiedenen Luftfeuchten und in unterschiedlichen Suspensionsmedien

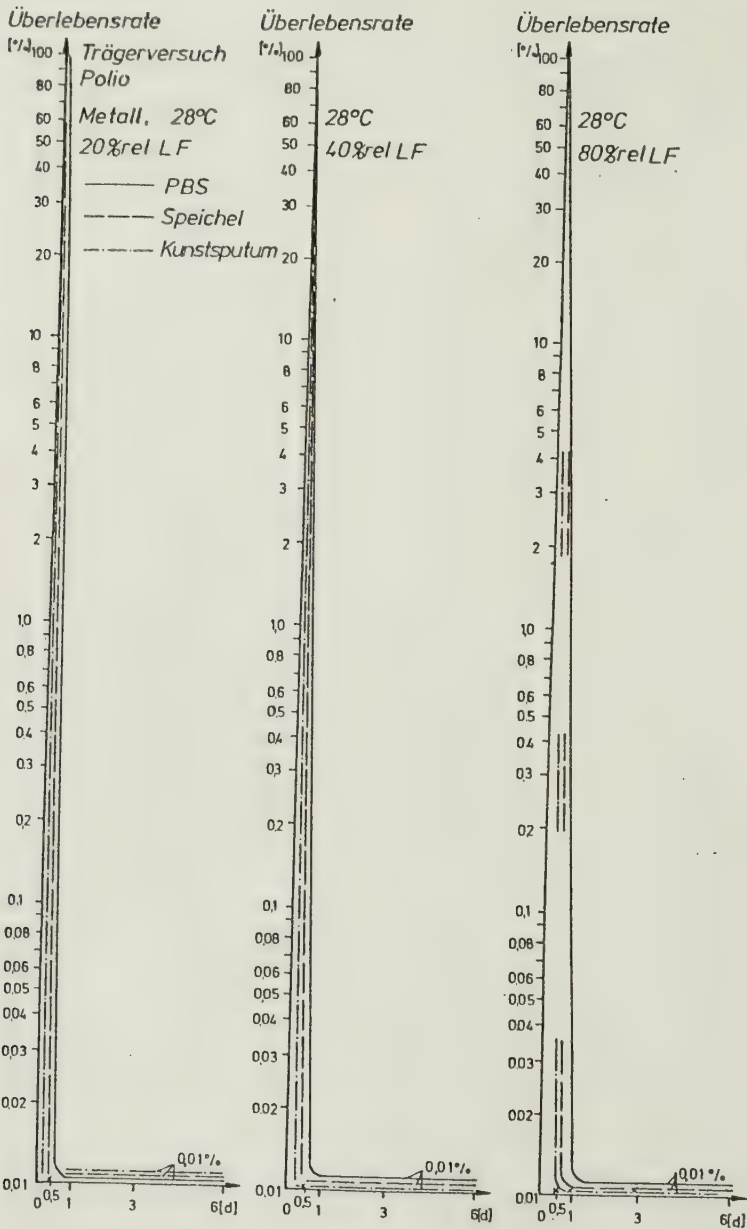


Abb. 9 Überlebensraten von Polioviren P II att auf Metall bei 28°C bei verschiedenen Luftfeuchten und in unterschiedlichen Suspensionsmedien

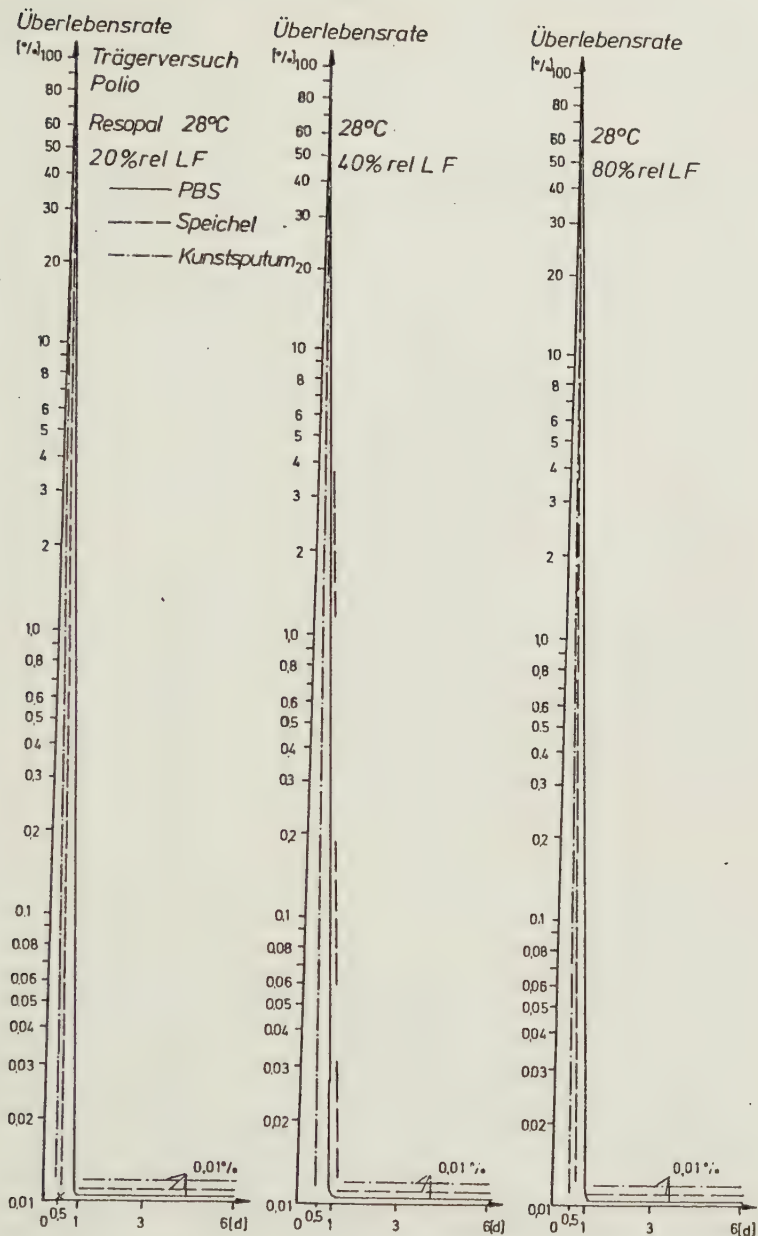


Abb. 10 Überlebensraten von Polioviren P II att auf Resopal bei 28°C bei verschiedenen Luftfeuchten und in unterschiedlichen Suspensionsmedien

den Parameter für das Absterbeverhalten dar. Dem Träger kam keine Bedeutung zu. Bei 21°C und einer Luftfeuchte von 20% und 40% reduzierte sich der Virusgehalt auf den Trägern um 99,99%, wobei hier das Suspensionsmedium keine wesentliche Veränderung der Absterbekinetik verursachte. Bei 80% relativer Luftfeuchte wurde der Einfluß des Suspensionsmediums am deutlichsten. Im Kunstsputum wurde die 99,99%ige Absterbequote am 3. Tag, im Speichel am 6. Tag erreicht. Im PBS fiel der Virusgehalt auf den Trägern während der ersten 3 Tage nur auf 99-99,9% des Ausgangswertes ab. Ab dem dritten Tag war kein weiterer Verlust mehr vorhanden.

Anders liegen die Verhältnisse bei den Versuchen mit 28°C Lagertemperatur. Unabhängig von der Luftfeuchte und den drei Suspensionsmedien nahm der Virusgehalt auf beiden Testflächen innerhalb des ersten Tages soweit ab, daß kein Virus mehr nachweisbar war (Reduktion > 99,99%). Ein Einfluß der hohen Luftfeuchte war in dieser Versuchsreihe nicht nachweisbar.

5.4. Keimträgerversuche mit Herpes

5.4.1. Vorversuch

Da vielfach in der Literatur behauptet wird, daß Herpesviren aufgrund ihrer Instabilität innerhalb weniger Sekunden bis Minuten in der Außenwelt absterben, sollte in Vorversuchen geklärt werden, in welchem Umfang unsere Modellviren bei Lagerung bei Zimmertemperatur auf Resopal innerhalb von 2 Stunden überleben. In der Abb. 11 sind die Mittelwerte der Überlebensraten aus 4 Versuchen dargestellt. In diesen Experimenten konnten wir nachweisen, daß innerhalb der ersten Stunde die Reduktion im Bereich einer log-Stufe lag. Zu diesem Zeit-

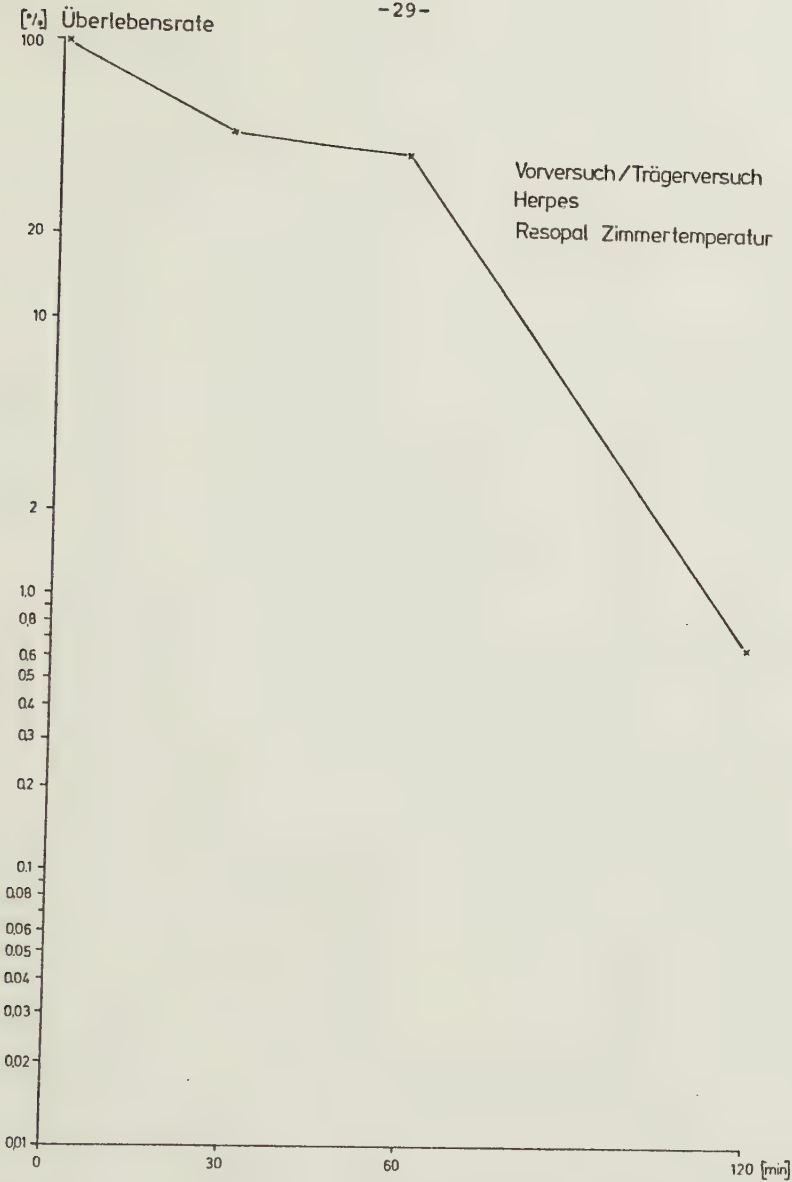


Abb. 11 Vorversuch : Überlebensraten von Herpes - simplex -
Viren Stamm Lennette auf Resopal
bei Raumtemperatur

punkt war der Herpesviren enthaltende Gewebekulturüberstand angetrocknet. Innerhalb der zweiten Stunde erfolgte dann noch eine weitere Reduktion um eine log-Stufe.

5.4.2. Hauptversuch

Die Ergebnisse der Überlebensversuche der Herpesviren auf den Keimträgern Resopal und Nirostastahl sind in den Abb. 12,13,14 und 15 dargestellt.

Die Experimente mit Herpesviren, suspendiert in PBS und bei 21°C gelagert machen deutlich, daß hier die Absterbekinetik stark von der relativen Luftfeuchte beeinflusst wurde. So fiel der Herpesvirusgehalt auf den Trägern bei hoher relativer Luftfeuchte(80%) langsamer ab als bei geringer Luftfeuchte(20%). Bei 20% und 40% relativer Luftfeuchte wurde die 99,99%ige Reduktion schon innerhalb des ersten Versuchstages erreicht, bei 80% relativer Luftfeuchte dagegen erst am 3. Tag. In den Suspensionsmedien Kunstsputum und Speichel war im Vergleich zum PBS das Absterben beschleunigt und der Einfluß der relativen Luftfeuchte nicht nachweisbar. So wurde innerhalb der ersten 3 Tage die 99,99%ige Inaktivierung erreicht.

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen zum Überleben der Herpesviren auf den verschiedenen Flächen in Abhängigkeit vom Suspensionsmedium bei hoher Umgebungstemperatur(28°C) zeigten, daß innerhalb eines halben Tages eine höhere Inaktivierungsquote als 99,99% erreicht wurde.

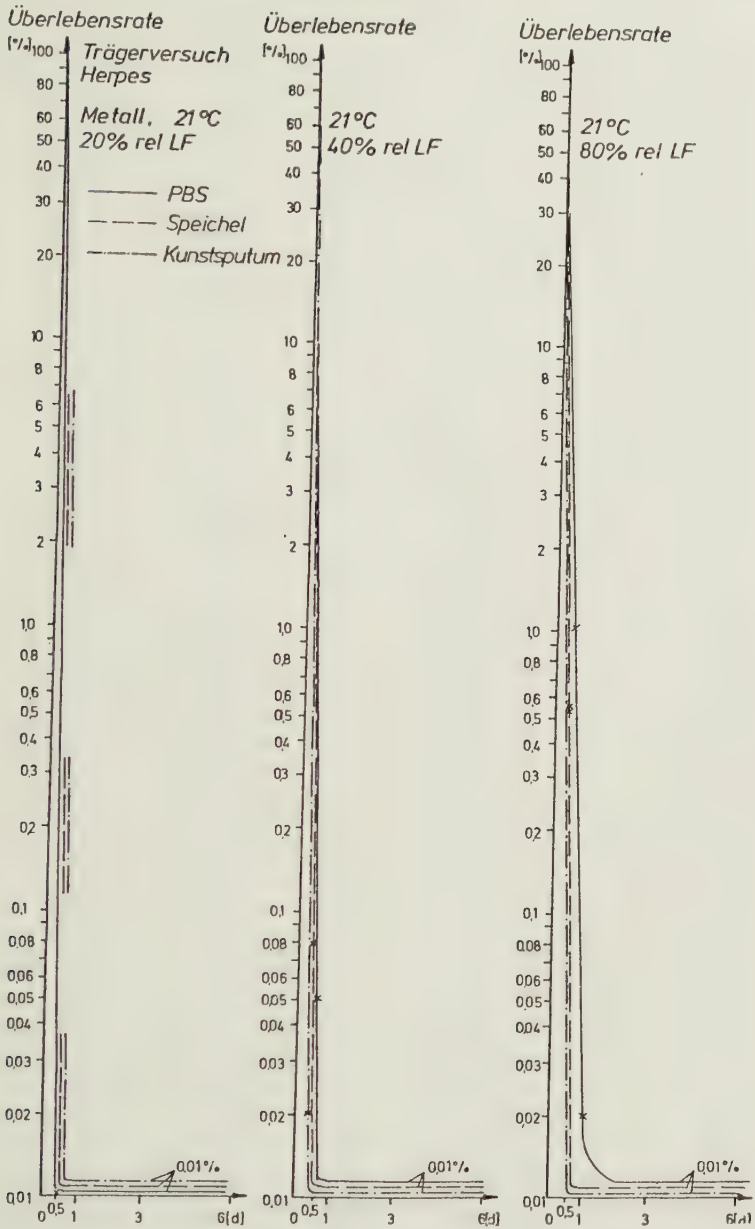


Abb. 12 Überlebensraten von Herpes - simplex - Viren Stamm Lennette auf Metall bei 21°C bei verschiedenen Luftfeuchten und in unterschiedlichen Suspensionsmedien

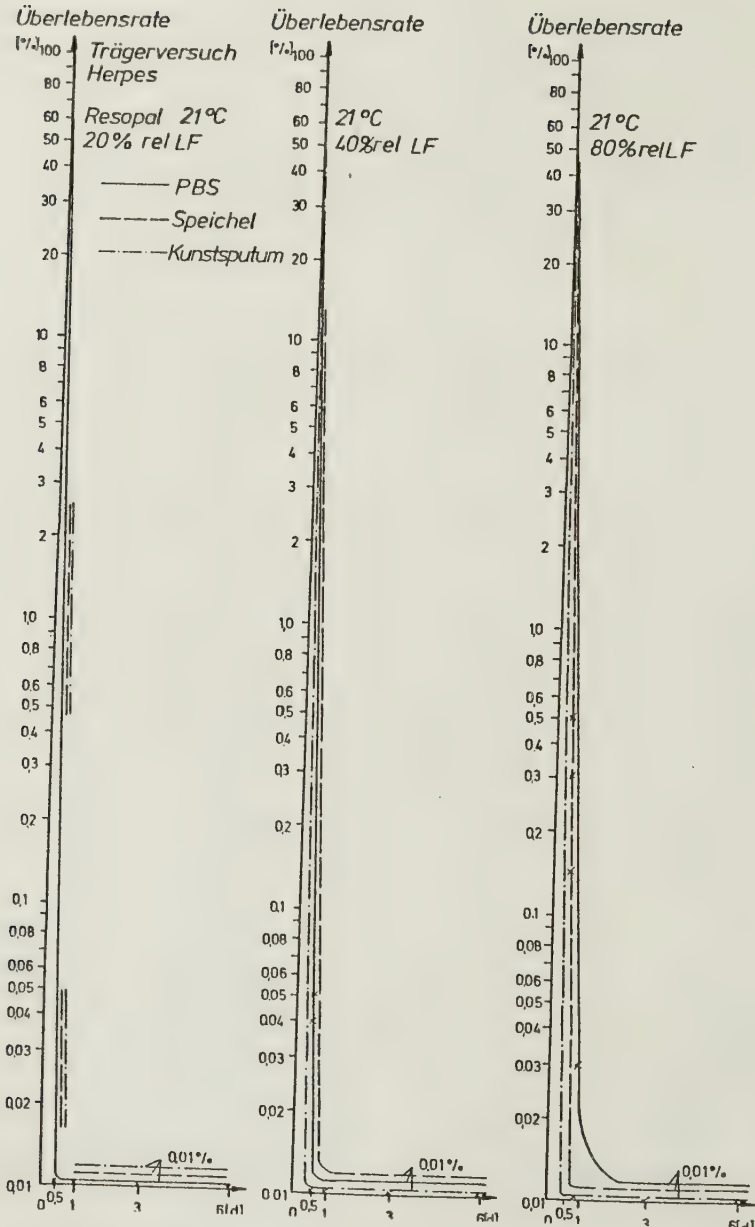


Abb. 13 Überlebensraten von Herpes - simplex - Viren Stamm Lennette auf Resopal bei 21°C bei verschiedenen Luftfeuchten und in unterschiedlichen Suspensionsmedien

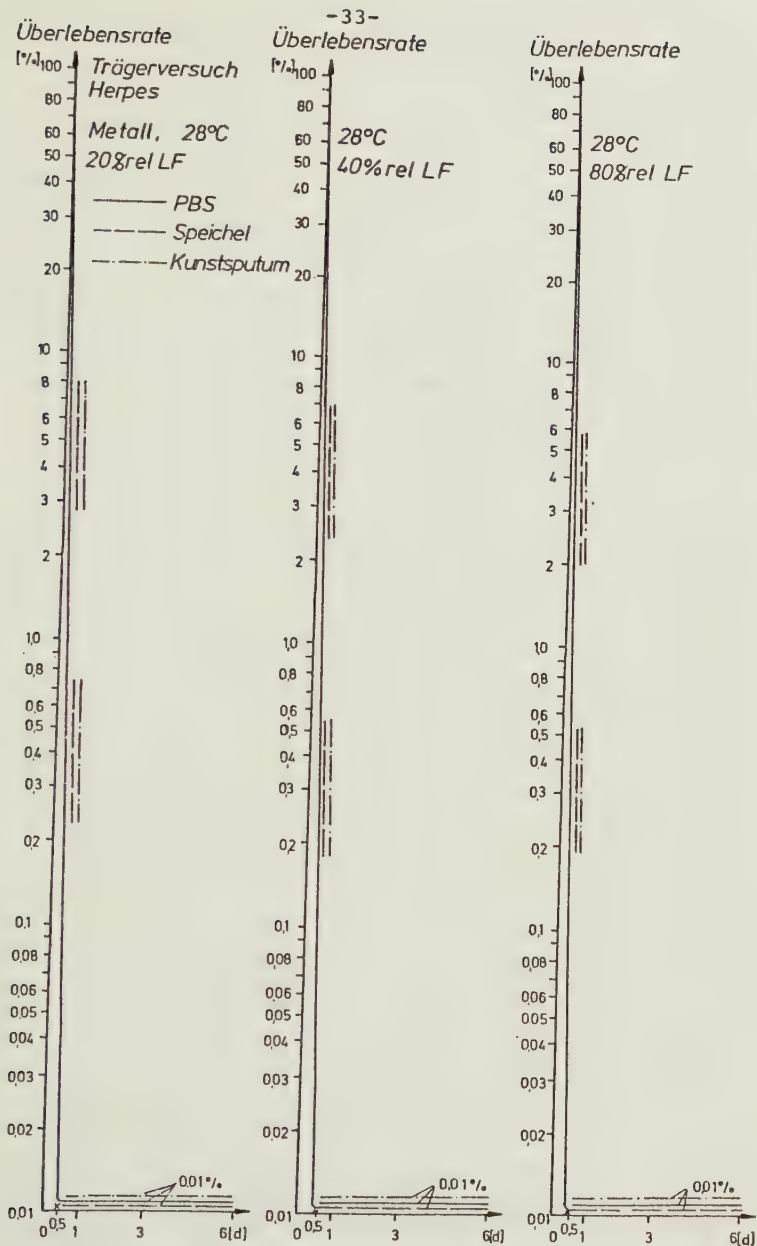


Abb. 14 Überlebensraten von Herpes - Simplex - Viren
Stamm Lennette auf Metall bei 28°C bei
verschiedenen Luftfeuchten und in
unterschiedlichen Suspensionsmedien

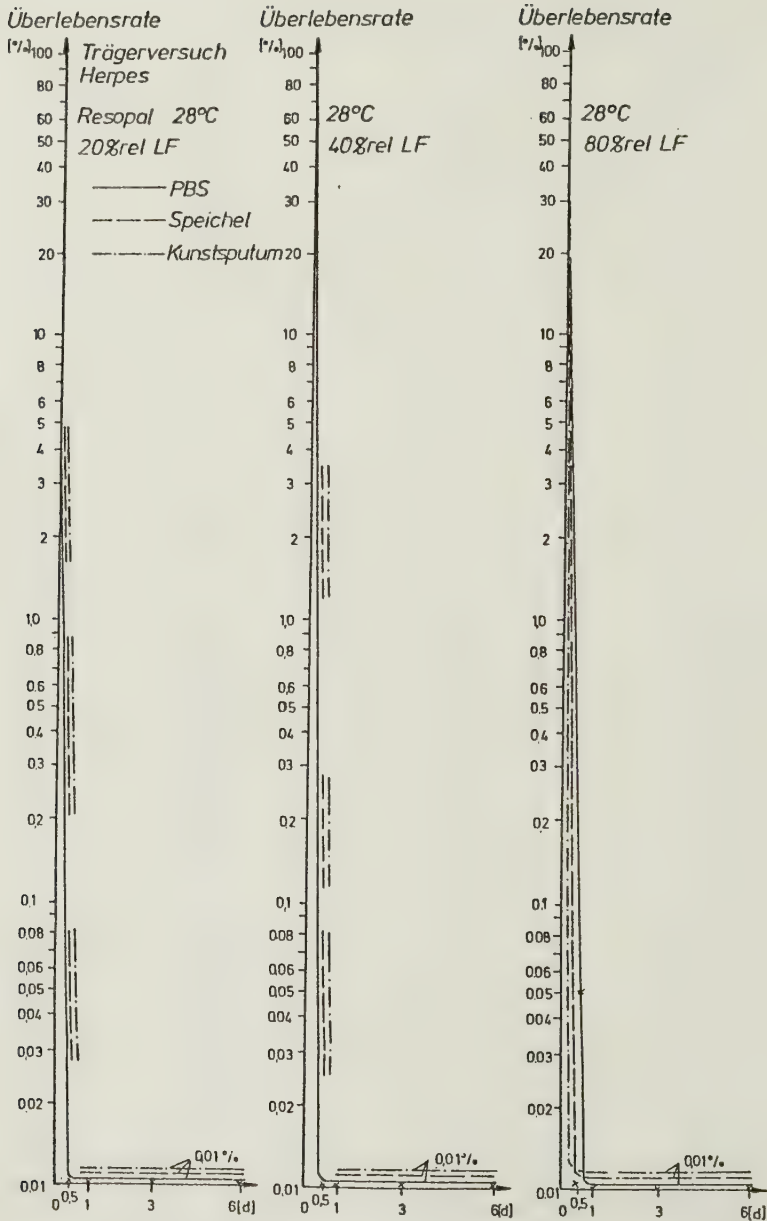


Abb. 15 Überlebensraten von Herpes - simplex - Viren Stamm Lennette auf Resopal bei 28°C bei verschiedenen Luftfeuchten und in unterschiedlichen Suspensionsmedien

6. DISKUSSION

Unsere Untersuchungen des Überlebens in Speichel suspendierter Polio- und Herpesviren erbrachten im Vergleich zu den Suspensionsmedien PBS und Kunstsputum unterschiedliche Verhaltensweisen. Zunächst war festzustellen, daß das Suspensionsmedium bei 28°C keinen Einfluß auf die Absterbekinetik hatte. Bei 14°C und 21°C hingegen waren die Absterberaten der Polioviren im Speichel geringer als im Kunstsputum und PBS. Zwischen den Versuchen mit Kunstsputum und PBS als Suspensionsmedien ließen sich keine wesentlichen Unterschiede nachweisen. Diese Ergebnisse sind bemerkenswert, da durch die Anwesenheit von Kationen im PBS eine höhere Tenazität zu erwarten war. Durch einen Vergleich der unterschiedlichen Suspensionsmedien wurde weiter deutlich, daß in unseren Versuchen der Speichel auf Polioviren nicht viruzid wirkte. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Untersuchungen von Ivanova-Sobinova(38), Mulé(48) und Umemoto(67), die viruzide Eigenschaften des Speichels nachweisen konnten.

Unsere Überlebensquoten der Polioviren nach 14 Tagen lassen sich mit den bisherigen Untersuchungen zum Überleben von Enteroviren im Wasser und Abwasser vergleichen. Bei Temperaturen von 5°C und 37°C konnten Enteroviren nach über einem Jahr nach Zusatz zum Wasser nachgewiesen werden(46). Auch das von der Wassertemperatur abhängige Überleben war in unserem Versuch festzustellen.

Die hohe Stabilität der Polioviren ist auch mit dem Verhalten von Influenzaviren vergleichbar. Gereinigte Influenzaviren zeigen eine hohe Tenazität. Cox et al. (16) konnten innerhalb von 6 Tagen bei einer Lagerung

bei 4°C und 37°C keinen wesentlichen Titerverlust nachweisen. Diese ERgebnisse wurden von Gönnert und Bock (26) bestätigt, die innerhalb von 7 Tagen keine wesentliche Abnahme des Gehaltes an Theiler'schen Virus fanden. Weiter ist ein Vergleich mit MKS-Viren möglich, die innerhalb von 2 Tagen in Suspension bei 25°C kaum abstarben(17).

Die Absterbekinetik der Herpesviren unterschied sich hinsichtlich des Einflusses der Suspensionsmedien PBS und Kunstsputum nicht prinzipiell von der der Polioviren. Allerdings war die Reduktion zwischen dem 3. und 6. Tag im Vergleich zu den Polioviren verstärkt. Im Speichel wurden die Herpesviren deutlich schneller als im PBS und Kunstsputum inaktiviert. Dieses Verhalten wirft die Frage auf, ob im Speichel Substanzen bzw. Antikörper vorhanden waren, die eine Viruzidie oder Neutralisation bewirkten.

Der Befund, daß das Suspensionsmedium Speichel auf das Herpesvirus keine stabilisierende Wirkung hatte, kann aber vor allem mit Untersuchungen von Wallis und Melnik(69) erklärt werden. Diese fanden, daß Proteine und Aminosäuren, die an sich virusstabilisierende Eigenschaften haben, nicht die Hitzestabilität der Herpesviren erhöhten. Die Autoren nehmen an, daß die zugefügten Proteine teilweise der durch die Salze bewirkten Thermostabilität entgegenwirkten.

Weiter kann die Inaktivierung im Speichel auch auf Gewebephosphatasen zurückgeführt werden. Untersuchungen von Amos(3) zeigten, daß der Zusatz dieser Enzyme den Herpesvirusgehalt in Suspensionen verringerte, andererseits ein Zusatz von Phosphataseinhibitoren die Überlebenszeit verlängerte.

Die im Suspensionsversuch nachgewiesene Protektion des Speichels hinsichtlich des Absterbens der Polioviren war in den Keimträgerversuchen nicht mehr nachweisbar. Bei der niederen Temperatur von 21°C hatte bei hoher relativer Feuchte die phosphatgepufferte Salzlösung eine günstigere Wirkung auf das Überleben der Polioviren auf den Resopal- und Metallflächen als der Speichel. Dieses Phänomen kann damit erklärt werden, daß während der Antrocknungsphase die hygroskopischen Eigenschaften der Salze dafür verantwortlich waren. Bei niedrigen relativen Luftfeuchten (20% und 40%) hatten die verschiedenen Suspensionsmedien keinen wesentlichen differenten Einfluß. Unsere Absterbekinetiken entsprechen den Ergebnissen von Geissler et al. (25) die praxisrelevante Flächendesinfektionsversuche durchführten. Nach 24 Stunden fanden sie eine Abnahme um 4 log 10-Stufen während der Antrocknung der Virussuspension auf den Versuchsflächen. Unsere Versuche belegen deren Hinweise, daß der Keimträger keinen Einfluß auf das Absterbeverhalten ausübt. Sie testeten das Virusverhalten auf Edelstahl, Aluminium, verzinktem Eisenblech, Plexiglas und PVC.

Diese Ergebnisse sind jedoch nicht auf andere Trägermaterialien zu übertragen. Wie Weinhold und Kunz (70) zeigten, nimmt auf Trägern wie Eierschalen, Mulläppchen und Holz, die in der Lage sind, Flüssigkeit zu speichern, während der Antrocknungsphase der Gehalt an Testviren nur in geringem Maße ab.

Unsere Ergebnisse, daß Polioviren auf Flächen eine höhere Stabilität bei einer hohen Luftfeuchte haben und damit länger überlebensfähig sind, stimmen mit den Resultaten von Hennemann (33) überein, der das Verhalten von getrockneten Polioviren bei unterschiedlichen Luft-

feuchten untersuchte. Diese Befunde stehen aber im Gegensatz zu Versuchen von Gaidamowicz und Schubladse(61), die erst nach Tagen, bzw. erst nach 3-4 Monaten eine Inaktivierung des Herpesvirus bei Zimmertemperatur (18°C - 24°C) fanden.

Das verzögerte Absterben der Herpesviren im Suspensionsversuch war im Keimträgerversuch nicht mehr nachweisbar. Innerhalb eines Tages waren fast alle Viren, unabhängig von Temperatur, Suspensionsmedium und Keimträger abgestorben. Diese Absterbekinetik entspricht nicht den Überlebensraten von Polioviren auf Flächen. Im Gegensatz zu den Poliovirusversuchen mit hoher Luftfeuchtigkeit(80%) hatte hier die Salzlösung keinen Einfluß auf das Überleben. Das in unseren Laborversuchen nachgewiesene Absterben der Herpesviren innerhalb dreier Tage entspricht der Inaktivierung unter natürlichen Bedingungen. So verlieren mit Herpesviren infizierte Gewebe bei Zimmertemperatur im wesentlichen bis zum vierten Tag ihre Infektiosität(66).

Die relativ geringe Tenazität des Herpesvirus gegenüber Antrocknung auf Flächen ist vergleichbar mit dem Verhalten des Newcastle-Disease-Virus. So fand Holz(35), daß bei dieser Virusart innerhalb von 7 Stunden bei 37°C während der Antrocknungsphase auf Glas, Holz etc. ein Virusverlust um mehr als 3 log 10-Stufen auftrat.

Mit Ausnahme des Absterbens der Herpesviren im Speichel ist in den Suspensionsversuchen festzustellen, daß die Absterbekurven der Modellviren während des 3.-6. Tages einen plateauartigen Verlauf nehmen. Dieses Verhalten deutet darauf hin, daß das Überleben der Viren durch verschiedenartige Aggregationszustände bedingt sein kann. Der erste Abfall des Virustiters kam

zunächst durch die solität liegenden Viruspartikel zustande. Nach einer Latenzzeit von circa 2 Tagen wurden auch die im Konglomerat vorliegenden Viren inaktiviert. Dieser Effekt war vor allem in den Suspensionsmedien PBS und Kunstsputum deutlich. Im Speichel war dieses Verhalten für Herpesviren nicht nachweisbar. Diese Vielschritt- oder Multikomponentenkurve, bei deren anfänglichem schnellen Infektiositätsabfall zunächst nur die freien Viruspartikel betroffen sind und bei der in einer zweiten Phase die resistenteren Viren mit einer kleineren Zielgröße inaktiviert werden, ist aus der Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Viruzidie bekannt(44). Diese Effekte besitzen aber in der Praxis keine Relevanz, da in unseren Versuchen derartige Inaktivierungskinetiken weder in Abhängigkeit vom Träger noch von den geprüften Umgebungsfaktoren nachgewiesen werden konnte.

Die unterschiedliche Tenazität von Polio- und Herpesviren auf Flächen in Abhängigkeit von der Temperatur mag daran liegen, daß die Kolloidstabilität der Viren bei einem Wasserentzug derart stark variiert(8).

Deutlich wurde dies unter anderem auch dadurch, daß die relative Luftfeuchtigkeit das Überleben unserer Modellviren auf den Flächen beeinflusste. Bei sehr hoher relativer Luftfeuchte ergaben sich längere Überlebenszeiten und höhere Überlebensraten als bei geringen Luftfeuchten. Diese Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen von Songer(63) überein, der bei 90% relativer Luftfeuchte die geringsten Verluste an NCD-Virus der bovinen Rhinotracheitis nachwies.

Die gleichen Ergebnisse erzielten auch Ehrlich et al. (21), die eine signifikante Verringerung der Überlebenschancen von Coliphagen bei einer Senkung der Luft-

feuchte unter 70% fanden.

Die Inaktivierungszeiten für Polio- und Herpesviren sind im Vergleich zu Influenzaviren bei Antrocknung erheblich kürzer. So fanden Edward et al. (20) nach 3 Tagen nur einen geringen Verlust an vermehrungsfähigen Viren, sofern sie an Gegenstände oder Hausstaub angetrocknet waren. Nach einer Woche konnten sie noch 10% der eingesetzten Virusmenge, nach 14 Tagen noch 1% nachweisen.

Die besseren Überlebenschancen unserer Modellviren auf der Fläche bei hoher Luftfeuchte und niederen Temperaturen stehen im Gegensatz zu dem Verhalten von Viren in Aerosolen. Harper (31) fand die geringsten Absterberaten von Influenza-A-Viren (PR8), dem Virus der venezuelanischen Pferdeencephalitis und Polioviren Typ I in einem Zeitraum von 23 Stunden bei niedriger Temperatur (7°C - 11°C) und geringer Luftfeuchte (20%-50%).

Dmitrieva (18) konnte bei Inaktivierungsversuchen an Viren in Aerosolen ein differentes Verhalten feststellen. Während Adeno- und Enteroviren bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit bereits innerhalb von 1-2 Stunden inaktiviert wurden und bei hohen Luftfeuchten noch nach 24 Stunden nachzuweisen waren, wurde beim NCD-Virus, beim Parainfluenzavirus und beim Respiratory-Syncytial-Virus ein gegenteiliges Verhalten festgestellt. Die Autorin führt dieses Verhalten auf die Unterschiede in den Virusstrukturen zurück.

Unsere Versuche stehen auch nicht im Gegensatz zu Untersuchungen am Columbia-SK-Virus, das bei niedriger Temperatur (16°C) und in Abhängigkeit von der Feuchte unter-

schiedlich inaktiviert wird. Die maximalen Überlebensraten wurden bei Feuchten unter 5% erreicht. Bei hohen Temperaturen konnten derartige Wirkungsweisen nicht sicher erfaßt werden(1).

Unser Versuchsergebnis, daß Herpesviren entgegen der bisherigen Ansicht nicht innerhalb kürzester Zeit inaktiviert werden, das in weiteren Versuchen bestätigt werden konnte, läßt fragen, ob nicht auch andere Virusarten, für die ebenfalls eine sehr kurze Inaktivierungszeit an der Außenwelt angegeben wird, unter ähnlichen Bedingungen längere Überlebenszeiten besitzen. Das bedeutet, daß solange nicht praxisrelevante Untersuchungen die Inaktivierungszeiten von Viren bestimmt haben, auch auf eine viruzide Flächendesinfektion nicht verzichtet werden kann.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Obwohl in der zahnärztlichen Praxis die Gefahr der Kontamination der Umgebung und der Infektion des Personals mit Viren besteht, liegen über das Verhalten von Viren unter Speichелеinfluß kaum Untersuchungen vor. Diese Arbeit prüfte die Überlebensfähigkeit von Polio- und Herpesviren im Speichel vergleichend zu PBS und Kunstsputum bei unterschiedlichen Temperaturen und Luftfeuchten.

Während in den Suspensionsversuchen mit Polioviren im Speichel nach 14 Tagen temperaturabhängig noch 1%-10% der eingesetzten Viren nachweisbar waren, lagen die Überlebensraten in PBS und Kunstsputum bei weitgehend gleichartigen Kurvenverläufen darunter.

Die Inaktivierungsraten der Herpesviren in Suspensionsversuchen im Speichel waren wesentlich größer. Nach 6 Tagen war der Virusgehalt um 99,9%, nach 14 Tagen um 99,99% reduziert. Im Vergleich lagen die Raten in PBS und Kunstsputum bei 99% bzw. 99,9%.

In den Keimträgerversuchen war kein wesentlicher Einfluß des Trägermaterials auf die Absterbekinetiken nachweisbar. Bei Temperaturen von 28°C waren unabhängig von der Luftfeuchte und dem Suspensionsmedium innerhalb eines Tages mehr als 99,99% der aufgetragenen Polioviren inaktiviert. Bei 21°C wurde das Absterben mit Erhöhung der Luftfeuchte bis auf 80% wesentlich verzögert. PBS schützte die Polioviren mehr als Speichel und Kunstsputum.

In den Keimträgerversuchen mit Herpesviren war in Vorversuchen bei Zimmertemperatur während 2 Stunden nur eine Reduktion um 1-2 log 10-Stufen zu verzeichnen.

In den Hauptversuchen konnte ein geringfügiger protektiver Effekt der Salzlösung erfaßt werden. Innerhalb eines Tages waren jedoch unabhängig von Temperatur, Luftfeuchte und Suspensionsmedium mehr als 99,99% der aufgetragenen Herpesviren inaktiviert.

Aufgrund der nachgewiesenen Absterbekinetiken der Modellviren sind gezielte hygienische Maßnahmen zur Ausschaltung der Übertragung von Viren in ärztlichen und zahnärztlichen Praxen zu fordern.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Akers T.G., Bond Sh., Goldberg J.L.: Effect of temperature and relative humidity on survival of airborne Columbia-SK-group-virus. Appl. Microbiol. 14, 361 (1966)
2. Allen E.C., Kaneda B., Girardi A.J., McNair Scott T.F., Sigel M.M.: Preservation of viruses of the Psittakosis-Lymphogranuloma-Venerun-group and Herpes simplex under various conditions of storage. J. Bact. 63, 369 (1952)
3. Amos H.: The inactivation of Herpes simplex virus by phosphatase enzymes. J. exp. Med. 98, 365 (1953)
4. Andrewes C.H., Smith W.: Influenza: Further experiments of the active immunisation of mice. Brit. J. exp. Path. 18, 43 (1937)
5. Bagdasarijan G.A.: Materialien für Laboruntersuchungen der Überlebensfähigkeit einiger Enteroviren (Polio-, ECHO-, Coxsackie-Viren) im Boden. Fragen d. Virol. (UdSSR) 5, 551 (1962); Med. Ref. Zh. (Moskau) Nr. 4 Abt. III, 15 (1963)
6. Bagdasarijan G.A.: Die Dauer des Überlebens von Enteroviren (Polio, ECHO, Coxsackie) in Erde und auf Gemüse. J. Hyg. Epidem. (Praha) 8, 4, 497 (1964)
7. Bagdasarijan G.A.: Überleben von Entero- und Adenoviren im Wasser. (russ.) Gig i Sanit. 36, 10 (1970)
8. Beller K.: Das Problem der Virusvernichtung außerhalb der Wirtsorganismen. Medizinische 1956, 371
9. Bennett C.R., Hamre D.: Growth and serological characteristics of respiratory-syncytial-virus. J. Infect. Dis. 110, 8 (1962)
10. Bieling R., Heinlein H.: Die Grippe-Ergebnisse experimenteller Untersuchungen. J.A. Barth-Verlag, Leipzig (1949)
11. Bieling R.: Viruskrankheiten 1. Teil: Die Viruskrankheiten des Menschen. J.A. Barth-Verlag, Leipzig (1954)

12. Black F.L., Sheridan S.R.: Studies of an attenuated measles-virus-vaccine IV. Administration of vaccine by several routes. New Engl. J. Med. 263 (1960)
13. Black F.L., Reissig M., Melnik J.L.: Measles virus. Adv. Virus Res. 205 (1959)
14. Borneff J.: Virus im Wasser. Arch. Hyg. 150, 207 (1967)
15. Buckland F.E., Tyrell D.A.: Loss of infectivity by drying various viruses. Nature 195, 1063 (1962)
16. Cox H.R., v.d.Scheer J., Aiston Sh., Bohnel E.: The purification and concentration of influenza virus by means of alcohol precipitation. J. Immunol. 56, 149 (1947)
17. Cartwright S., Thorne H.V.: Some applications of detergents to the study of the virus of Foot-and-Mouth-disease. J.gen. Microbiol. 20, 61 (1959)
18. Dmitrieva R.A.: Concerning inactivation of viruses in the air. (Zusammenfassung) Zh. Microbiol.(Mosk.)4, 21 (1973)
19. Dossena G.: Resistenza degli adenovirus Typo 1,2,5,6 a varie temperature. Ann. Sclavo. 3, 171 (1961)
20. Edward D.G.: Resistance of influenza virus to drying and its demonstration on dust. Lancet 241, 664 (1941)
21. Ehrlich R., Miller S., Idoine L.S.: Effects of environmental factors on the survival of airborne T-3 coliphage. Appl. Microbiol. 12, 479 (1964)
22. Eisenburg I., Holl J., Weinzierl M., Grunst I., Wendl N., Puttkammer D.: Hepatitisrisiko bei Zahnärzten. Fortschr. Med. 1247 (1977)
23. Enders J.F., Peebles T.C., McCarthy K., Milanovic M., Mitus A., Holloway A.: Measles virus: A summary of experiments concerned with isolation, properties and behaviour. Am. J. Publ. Health 47, 275 (1957)
24. Erdbrink O.: Vorkommen und Konzentration von Blut im Speichel.- Ein Beitrag zur Übertragung der Hepatitis-B durch Speichel. Med Inaug. Diss. Univ. Mainz (1984)

25. Geissler H.: In Schliesser T., Strauch D.: Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1981)
26. Gönnert R., Bock M.: Zur Chemoresistenz der Viren. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 141, 60 (1950)
27. Greiff D., Blumenthal H., Chiga M., Pinkerton H.: The effects of biological materials of freezing and drying by vacuum sublimation. J. exp. Med. 100, 89 (1954)
28. Grumbach A., Kikuth W.: Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger. Bd. II Gg. Thieme Verlag, Stuttgart (1958)
29. Gurwitsch, Brin, Ladeine, Budarenko: zit. nach Sinkovics J.: Die Grundlagen der Virusforschung. Verlag der ungarischen Akademie der Wissenschaften (1956)
30. Haas R., Vivell O.: Virus- und Rickettsieninfektionen des Menschen. J.F. Lehmanns Verlag, München, 553, 685 (1965)
31. Harper G.J.: Airborne micro-organisms: survival test with four viruses. J. Hyg. Cambr. 59, 479 (1961)
32. Hegyeli Z.: zit. nach Sinkovics J.: Die Grundlagen der Virusforschung. Verlag der ungarischen Akademie der Wissenschaften (1956)
33. Hennemann E.: Experimentelle Untersuchungen über die Tenazität von Adenoviren des Schweines. Vet. Med. Dissert., München (1968)
34. Herrmann J.E., Kostenbader jr. K.D., Cliver D.O.: Persistence of enterovirus in lake water. Appl. Microbiol. 28, 895 (1974)
35. Holz W.: Flächendesinfektionsversuche mit dem Newcastle-Disease-Virus. Z. Hyg. Infekt.-Krankh. 144, 372 (1958)
36. Horsfall jr. F.L.: Neutralisation of epidemic influenza virus. J. exp. Med. 70, 209 (1939)
37. Ioli A., Abena-Voli S.M.: Osservazione sul periodo di persistenza dell'antigene Australe nell'acqua. Boll. Ist. Sieroter. Milanese 52, 103 (1973)

38. Ivanova-Sobinova M.S.: Influence of vaccination of protective properties of children's saliva against poliovirus. (Engl.Zusfssg.). Fragen d. Virol. (russ.) 547 (1962) zit. nach Zbl. Bakt. Hyg. Ref.
39. Ketler A., Hamparian V.V., Hillemann M.R.: Characterisation and classification of ECHO-28-rhinovirus-coryzavirus agents. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 110 821 (1962)
40. Knight C.A.: The stability of influenza virus in the presence of salts. J. exp. Med. 79, 285 (1944)
41. Krauss P., Weber E.: Untersuchungen über die Haltbarkeit von Krankheitserregern in Trink- und Oberflächenwasser. Zbl. Bakt. Hyg., I.Abt. Orig. B 171, 509 (1958)
42. Lauffer M.A., Carnelly H.L., McDonald E.: Thermal destruction of influenza-A-virus activity. Arch. Biochem. 16, 321 (1948)
43. Lépine P., Artzet F., Cedlin G.: Conservation du virus herpétique. Ann. Inst. Pasteur 98, 750 (1960)
44. Liess B.: Virusinaktivierung mit chemischen Mitteln. Vortrag. Symposium: Desinfektion und Prüfung von Desinfektionsmitteln. Dtsche. Vet. Med. Ges. Hannover, November 1972
45. Lossev B., Techarova M., Trendafilova R.: The influence of different stabilizers on Rubella virus resistance. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 219, 284 (1972)
46. Mahnel H., Ottis K., Herlyn M.: Stabilität von neun Virusarten unterschiedlicher Genera in Trink- und Oberflächenwasser. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 164, 64 (1977)
47. Mair: Wasser als Vektor von Infektionserregern: Viren im Wasser. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 172, 237 (1980)
48. Mulé F., Scaglione G.: Sulla presenza di particolare enzima nella saliva humana di soggetti affetti da

- malattie da virus. Boll. Ist. Sieroter. Milanese 35, 34 (1956)
49. Neefe J.R., Stokes jr. J.: Epidemic of infectious hepatitis apparently due to waterborne agent. J. Amer. med. Ass. 28, 1043 (1945)
50. Penttinen K.: The effect of low temperature of vaccines of influenza virus and on purified influenza virus. J. Immunol. 64, 165 (1950)
51. Prier J.E., Riley R.: Significance of water in natural animal virus transmission. zit. aus Berg G.: Die Virusübertragung auf dem Wasserweg. Arch. Hyg. Bakt. 149, 310 (1965)
52. Reed, Muench: A simple method for estimating fifty percent endpoint. Am. J. Hyg. 493 (1938)
53. Rhodes J.A., VanRooyen C.E.: Textbook of virology. Third Edition. The Williams and Wilkins Company, Baltimore (1958)
54. Rimland D., Parkin W.E., Miller G.B., Schrack W.D.: Hepatitis-B outbreak traced on an oral surgeon. New Engl. J. Med. 296, 953 (1977)
55. Ruckle G.: Studies with measles virus: 1. Propagation in different tissue culture systems. J. Immunol. 78, 330 (1957)
56. Ruschi A., Bendinelli H.: Ricerche sulla inattivazione di enterovirus nell'acqua di mare. Boll. Ist. Sieroter. Milanese 45, 525 (1966)
57. Schenk E.: Zur Frage der Resistenz des Newcastle-Disease-Virus natürlichen Einflüssen gegenüber. Vet. Med. Diss., Berlin (1955)
58. Scherp H.W., Flosdorf E.W., Shaw D.R.: Survival of the influenza virus under various conditions. J. Immunol. 34, 447 (1938)
59. Schneeweis K.E.: Über die Haltbarkeit von drei Herpes-simples Virusstämmen bei tiefen Temperaturen. Zschr. Hyg. 147, 319 (1961)

60. Schubladse A.K., Gaidamowicz S.J.: zit. nach Sinkovics J.: Die Grundlagen der Virusforschung. Verlag der ungarischen Akademie der Wissenschaften (1956)
61. Sidwell R., Dixon G., Westbrook L., Forziati F.: Quantitative studies on fabrics as disseminators of viruses. V. Effect of laundering on poliovirus contaminated fabrics. Appl. Microbiol. 21, 227 (1971)
62. Solomkin: zit. nach Sinkovics J.: Die Grundlagen der Virusforschung. Verlag der ungarischen Akademie der Wissenschaften (1956)
63. Songer J.R.: Influence of relative humidity on the survival of some airborne viruses. Appl. Microbiol. 15, 35,42 (1967)
64. Sonntag H.G.: Vorkommen und Übertragungswege von Infektionserregern im zahnärztlichen Bereich. Hyg. + Med. 5, 507 (1980)
65. Stock C.Ch., Francis jr. Th.: The inactivation of the virus of epidemic influenza by soapes. J. exp. Med. 71, 661 (1940)
66. Tyrell D.A.J., Horsfall F.L.: Disruption of influenza virus (properties of degradation products of the virus particle). J. exp. Med. 99, 321 (1954)
67. Umemoto Y.: Germ-free Human saliva. Osako Dental College (1981)
68. Waldmann: L'état des recherches sur la fièvre aphteuse dans les Laboratoires des Recherches de l'État de l'île de Riems. (Le rôle prophylactique de sérum hyperimmunisant contre la fièvre aphteuse). Bull. Office Intern. Epizootics 1, 518 (1928)
69. Wallis C., Melnik J.L.: Thermostabilisation and thermosensitisation of herpes virus. J. Bact. 90, 1632 (1965)
70. Weinhold, Kunz: Methodik der Prüfung chemischer Desinfektionsmittel auf viruzide Wirksamkeit. Vortrag. Symposium: Desinfektion und Prüfung von Desinfektionsmitteln. Dtsche. Vet. Med. Ges. Hannover, November 1972

71. Wellner et al.: in Haas R., Vivell O.: Virus- und Rickettsieninfektionen des Menschen. J.F. Lehmanns Verlag, München (1965)

Lebenslauf

Am 23. März 1954 wurde ich als Tochter des kaufmännischen Angestellten Norbert Kluin und seiner Frau Gertraude, geb. Vogel, in Frankfurt/Main geboren.

Von 1960-1963 besuchte ich die Grundschule in der Riedschule in Flörsheim/Main und wechselte dann auf das Immanuel-Kant-Gymnasium in Rüsselsheim über, wo ich am 13. Juni 1972 das Reifezeugnis erhielt.

Von 1972-1977 studierte ich an der Mainzer Johannes-Gutenberg-Universität das Fach Zahnmedizin und erhielt am 23. November 1977 die Bestallung als Zahnärztin.

Nach 2-jähriger Assistententätigkeit in verschiedenen Zahnarztpraxen im Bundesgebiet eröffnete ich am 01. Oktober 1980 eine Zahnarztpraxis in Flörsheim/Main.

Ich möchte mich bei Herrn Professor Dr. E. Pfeiffer für die Zurverfügungstellung des Dissertationsthemas und die freundliche Betreuung während der Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Susanne Aderhald und Frau Beate Opfer für die technische Hilfe sowie Herrn Kurt Katzschner für die Zeichnung der Diagramme.

